

Alumno: Hernández Flores Patricia Itzel

Matrícula: 2173026949

Lugar de realización: Laboratorio de Biología Molecular N-013, edificio N, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

Periodo de realización: 01 de marzo de 2022 al 31 de agosto de 2022

Unidad: UAM- Xochimilco

División: Ciencias Biológicas y de la Salud

Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica

Proyecto: Estandarización de la dosis de DSS para inducir colitis ulcerativa en ratones BALB/c machos

Asesores



Dra. Maria Elisa Drago Serrano
Asesor interno a cargo
No. Económico: 17243



Dra. Fabiola Guzmán Mejía
Asesor externo a cargo
Posdoctorante ID: 900050

ÍNDICE

Resumen	3
Abstract.....	4
1. Introducción	5
1.1 Modelos animales como inductores de CU	6
1.1.1 Modelos químicos	7
1.1.2 DSS como inductor de cu	8
2. Justificación.....	9
3. Objetivos generales y específicos	9
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos	10
4. Metodología utilizada y actividades realizadas	10
4.1 Animales	10
4.2 DSS	10
4.3 Modelo experimental	11
A. Evaluación del consumo de alimento	11
B. Evaluación del peso corporal.....	11
C. Evaluación de la consistencia de las heces	11
D. Evaluación de la presencia de sangre en heces	12
E. Evaluación del índice de actividad de la enfermedad (dai)	12
F. Análisis estadístico.....	13
5. Metas alcanzadas	13
6. Resultados y conclusiones	13
6.1. Modelo experimental	13
A. Evaluación del consumo de alimento	13
B. Evaluación de peso corporal.....	14
C. Evaluación de la consistencia de heces	15
D. Evaluación de la presencia de sangre en las heces	16
E. Evaluación del índice de actividad de la enfermedad (dai)	17



7. Recomendaciones	18
8. Bibliografía.....	19

Resumen

Introducción: La colitis ulcerativa (CU) es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta el colon. Los síntomas de la CU son diarrea, presencia de sangre y mucosidades mezcladas con heces, acompañadas de calambres abdominales bajos. Para estudiar el posible mecanismo implicado en la patogénesis de la CU es necesario el desarrollo de modelos experimentales como lo es el dextran sulfato de sodio (DSS) como inductor de CU. **Justificación:** En este trabajo se probaron dos diferentes dosis de DSS para reproducir la colitis como un modelo experimental. La importancia de estandarizar este modelo radica en que podría servir para evaluar potenciales terapias contra el tratamiento de la CU humana. **Objetivo:** Evaluar las dosis de DSS al 2.5 y al 5 % para inducir la colitis ulcerativa en ratones BALB/c machos. **Metodología:** Los ratones BALB/c se trabajaron en los siguientes grupos: grupo 1 tratado con agua (control), grupo 2 tratado con DSS al 2.5% y grupo 3 tratado con DSS al 5%, este tratamiento se aplicó durante 8 días continuos. Para medir el índice de la actividad de la enfermedad (DAI) se evaluaron los siguientes parámetros diariamente: consumo de alimento, pérdida de peso corporal, consistencia y presencia de sangre en heces. Los datos fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, considerando que las diferencias fueron significativas a valor de $p < 0.05$. **Resultados:** Con base en lo anterior se observó que ninguna de las dosis probadas de DSS causó el DAI. **Conclusión:** Con las condiciones experimentales implementadas en este protocolo no se logró reproducir el modelo de colitis reportado en la literatura.

Palabras Clave: Colitis Ulcerativa, Modelos animales, colon, pérdida de peso, sangrado de heces, inductores químicos, dextran sulfato de sodio, índice de actividad de enfermedad.



Abstract

Introduction: Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease that affects the colon. The symptoms of UC are diarrhoea, presence of blood and mucus mixed with feces, accompanied by lower abdominal cramps. To study the possible mechanism involved in the pathogenesis of UC, it is necessary to develop experimental models such as dextran sulfate sodium (DSS) as an inducer of UC.

Justification: In this work, two different doses of DSS were tested to reproduce colitis as an experimental model. The importance of standardizing this model lies in the fact that it could be used to evaluate potential therapies against the treatment of human UC.

Objective: To evaluate doses of 2.5% and 5% DSS to induce ulcerative colitis in male BALB/c mice. **Methodology:** BALB/c mice were worked in the following groups: group 1 treated with water (control), group 2 treated with DSS at 2.5% and group 3 treated with DSS at 5%, this treatment was applied for 8 continuous days. To measure the disease activity index (DAI), the following parameters were evaluated daily: feed intake, body weight loss, consistency, and presence of blood in feces. The data were analyzed with the Kruskal-Wallis non-parametric test, considering that the differences were significant at $p < 0.05$.

Results: Based on the above, it was observed that none of the tested doses of DSS caused IAD. **Conclusion:** With the experimental conditions implemented in this protocol, it was not possible to reproduce the colitis model reported in the literature.

Keywords: Ulcerative Colitis, Animal models, colon, weight loss, stool bleeding, chemical inducers, dextran sodium sulfate, disease activity index.



1. Introducción

Epidemiología: En los últimos años, la incidencia de la colitis ulcerativa (CU) ha ido en aumento y ha sido clasificada como una de las enfermedades intratables por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Kotze et al., 2020). Un estudio que se realizó en un hospital de referencia en la Ciudad de México reportó que hubo un aumento de 2.6 veces en la incidencia de CU diagnosticada desde 1987–1996 hasta 1997–2006 (Yamamoto-Furusho, 2009). Por otra parte, un estudio a nivel nacional realizado entre 2000 y 2017, reportó que la incidencia más alta de CU se registró en 2015 (0.16/100 000 personas por año) en comparación con años anteriores, los diagnósticos de CU aumentaron en un promedio de 10.8 ± 6.3 % por año, y la incidencia de nuevos casos de CU se multiplicó por 5.3 entre 2000 y 2016 (Yamamoto-Furusho et al., 2019). Otra característica que se ha estudiado, es que los pacientes desarrollan CU entre los 15 y 30 años, aunque los individuos de 50 a 70 años conforman otro grupo de riesgo potencial (Loftus & Sandborn, 2002). Además, no existen diferencias significativas en el riesgo de CU entre los hombres y las mujeres. Por consiguiente, el aumento de la incidencia de esta enfermedad incrementa la carga tanto económica como sanitaria, dando como resultado una mejora en los tratamientos, así como su mayor accesibilidad y finalmente una cura.

Manifestaciones clínicas: La CU es una de las entidades más representativas de las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (Sonnenberg & Siegmund, 2016). La inflamación comienza en el recto y generalmente se extiende proximalmente de manera continua a lo largo de todo el colon. Los síntomas más característicos que presenta la CU son diarrea, presencia de sangre, heces mezcladas con mucosidades y calambres abdominales bajos (Goyal et al., 2014). Además, esta enfermedad de manera prolongada y crónica puede progresar a cáncer colorrectal (Liu & Wang, 2011).

Características histológicas: La CU presenta características histológicas muy significativas, las cuales se basan en una inflamación continua de la mucosa colónica asociada a una distorsión arquitectural, plasmocitosis basal (presencia de células plasmáticas en la base de las criptas colónicas) y en ocasiones inflamación aguda que puede llegar a causar criptitis o abscesos crípticos (González, 2018).

Sin embargo, a pesar de los avances científicos aún no se conoce por completo su patogenia, pero se le puede atribuir a la respuesta desregulada del sistema inmunitario innato y adaptativo, a la pérdida de tolerancia a las bacterias de la

barrera mucosa, el aumento de los mediadores inflamatorios y el estrés oxidativo (Goyal et al., 2014).

Dado que aún no se conoce la etiología exacta de la CU, se han desarrollado una serie de modelos experimentales para estudiar el posible mecanismo implicado en la patogénesis de esta enfermedad, además de encontrar nuevas dianas terapéuticas.

1.1 Modelos Animales como inductores de CU

Los modelos animales experimentales tienen muchas ventajas sobre el estudio de los mecanismos del desarrollo de la CU: estos pueden simular todo el proceso de aparición y desarrollo de la CU. Por lo tanto, se ha vuelto de suma importancia construir un modelo animal de laboratorio de la enfermedad de CU que sea lo más similar al entorno intestinal humano y así poder trabajar en el diseño de nuevos tratamientos (Goyal et al., 2014), Dentro de los modelos disponibles que pueden analizar la CU están los inducidos por químicos, inmunológicos, inducidos por bacterias, espontáneos, modificados genéticamente y transgénicos (Tabla 1) (Goyal et al., 2014).

Tabla 1. Clasificación de modelos animales de CU

Clasificación de modelos animales de CU	
Categoría	Especificidad
Modelos inducidos químicamente	<ul style="list-style-type: none"> • DSS • TNBS/DNBS • Oxazolona • Ácido acético • carragenina • yodoacetamida
Modelo inmunológico	<ul style="list-style-type: none"> • 2, 4-Dinitroclorobenceno (DNCB)
Modelos inducidos por bacterias	<ul style="list-style-type: none"> • Inducida por Salmonella • <i>E. coli</i> invasiva adherente
Modelos genéticamente modificados	<ul style="list-style-type: none"> • TGF-β • IL-2 • MDR1A • Gai2 • TCRα • XBP1 • NEMO
Modelos de ratones transgénicos	<ul style="list-style-type: none"> • IL-7 Tg • HLA-B27
Modelos de transferencia adoptiva	<ul style="list-style-type: none"> • Modelo CD45RB de alta transferencia

Recuperada y modificada de (Goyal et al., 2014)

Antes del siglo XXI, se utilizaban la mayoría de los métodos de modelado como la inmunoestimulación. Sin embargo, con el paso del tiempo los modelos inducidos químicamente fueron utilizados con más frecuencia, esto debido a su relativa facilidad de administración, bajo costo y fácil adquisición.

1.1.1 Modelos químicos

Los modelos químicos permiten causar estímulos que provoquen reacciones en las células, tejidos y órganos, alterando así la homeostasis del cuerpo. Estos estímulos pueden ser desencadenados por ácidos, bases, fármacos, como se muestra en la Tabla 2. Así mismo, algunos agentes químicos pueden desencadenar la CU en forma indirecta.

Gracias a estos descubrimientos, se busca diseñar un modelo para estimular en el organismo animal mecanismos que puedan prevenir o curar la colitis causada por los agentes químicos (Gao et al., 2022).

Tabla 2. Modelos químicos y sus características

Modelos Químicos				
Método	Animales más susceptibles	Vía de Administración	Dosis y/o duración	Características Clínica
DSS	Ratones BALB/c machos	Oral, en el agua de bebida de los ratones.	De 3 a 10 % de DSS durante 7 a 10 días	Pérdida de peso, diarrea y sangre oculta en heces, piloerección y anemia
TNBS	Ratones SJL y BALB/c	Rectal, utilizando un catéter a través del ano.	De 0.5–4.0 mg de TNBS en etanol al 45–50 %	Pérdida de peso progresiva, diarrea sanguinolenta, prolapso rectal y engrosamiento de la pared del intestino grueso.
DNBS	Ratones SJL y BALB/c	Rectal, a través de un catéter de polietileno.	3 mg de DNBS en 100 μ L de etanol al 50 %.	Disminución de la ingesta de alimentos y del peso corporal, aumento del peso del colon y cambio en la consistencia de las heces.
Oxazolona	Ratones macho C57BL/6CrSlc	Rectal	100 μ L de solución de etanol al 50 % con oxazolona	Pérdida de peso, heces delgadas con pus y sangre, engrosamiento de la pared intestinal, erosión, edema y

			al 1 % bajo anestesia con pentobarbital y atropina.	pequeños parches de úlcera en el colon
Ácido Acético		Rectal, con una cánula de goma.	1.5 mL de ácido acético al 4 % (pH 2,3)	Pérdida de peso, disminución de la producción de moco, aumento del peso del colon.
Carragenina		Oral, en el agua de bebida de los ratones. Recuperada y modificada de: (Goyal et al., 2014)	10 % de carragenina (carragenina et al., 2014) durante 10 días	Diarrea sanguinolenta, acortamiento de la longitud del colon e inflamación pericríptica, con marcada dilatación del ciego y del colon ascendente

Al principio del siglo XXI los métodos más utilizados eran DNCB combinado con ácido acético o TNBS, sin embargo, para el 2014, los métodos químicos con DSS se comenzaron a utilizar con mayor frecuencia debido a su eficacia para inducir la enfermedad (Gao et al., 2022).

1.1.2 DSS como inductor de CU

El DSS es un colitígeno químico con propiedades anticoagulantes, (Chassaing et al., 2014); es un polisacárido sulfatado sintético que está compuesto por DSS y una unidad de glucosa anhidra sulfatada (Figura 1) (D. et al., 2012). Este polisacárido adicionado al agua potable se les administra a los ratones y da como resultado características sintomáticas que se asemejan a la CU (Laroui et al., 2012). La eficacia de la colitis inducida por DSS depende de varios factores, como lo son: la dosis (generalmente entre el 1% y 5%), la duración (aguda o crónica), el fabricante y el lote del DSS, la raza de los animales (usualmente las cepas de ratones C3H/HeJ y BALB/c son más susceptibles) y el sexo de los animales, siendo los ratones machos los más susceptibles. Sin embargo, la gravedad de la enfermedad inducida puede ser muy variable debido a que el fenotipo carece de los cambios crónicos observados en humanos (Low et al., 2013). A pesar de esto la colitis inducida por DSS sigue siendo de uso común, gracias a la fácil de administración (generalmente en el agua de bebida) y la facilidad para controlar la dosis la cual ayuda a determinar la gravedad de la enfermedad.

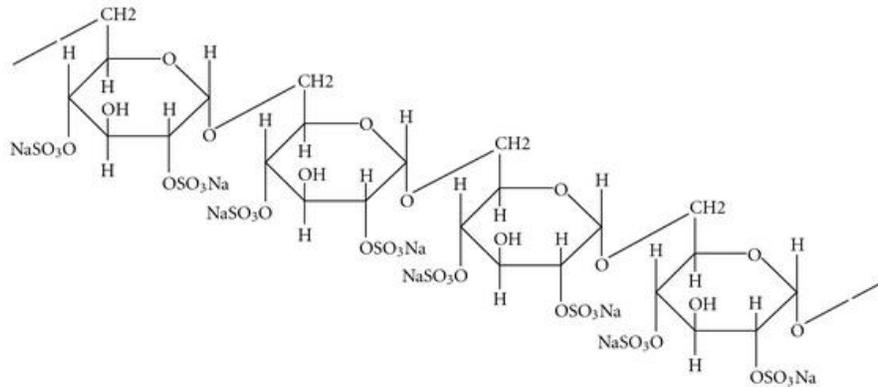


Figura 1. Estructura química del DSS

El DSS no causa directamente inflamación intestinal, sino que ejerce una lesión química en el epitelio intestinal, lo resulta en la exposición de la lámina propia (LP) y el compartimento submucoso a antígenos luminales y bacterias entéricas, lo que desencadena inflamación (Low et al., 2013).

2. Justificación

La importancia de estandarizar el modelo de colitis inducida por DSS radica en que posteriormente se pueden realizar propuestas de nuevas terapias específicas para el tratamiento de la CU, como podría ser la Lactoferrina bovina que se estudia en este grupo de investigación. A pesar de que se han desarrollado terapias antiinflamatorias como lo son el ácido 5-aminosalicílico, corticosteroides, algunos inmunomoduladores como azatioprina, 6-mercaptopurina y ciclosporina, estas no han sido lo suficientemente satisfactorias para el tratamiento de esta enfermedad (Liu & Wang, 2011). En este reporte se probó el DSS para evaluar su efecto colitogénico y generar un referente experimental para ser aplicado en modelos de colitis ulcerativa.

3. Objetivos generales y específicos

Objetivo general

Evaluar las dosis de DSS al 2.5 y al 5 % para inducir la colitis ulcerativa en ratones BALB/c machos.

Objetivos específicos

Determinar el índice de actividad de la enfermedad (DAI) (pérdida de peso, caracterización de las heces, hematoquecia).

4. Metodología utilizada y actividades realizadas

4.1 Animales

Se utilizaron ratones machos BALB/c de 6 semanas de edad proporcionados por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la UAM-Xochimilco. Se mantuvieron en condiciones controladas como lo son temperatura a 20°C, humedad relativa de 55% y ciclo de luz/oscuridad 12/12 h con la luz encendida a las 7:00 am y apagada a las 7:00 pm. Los ratones fueron provistos con alimento comercial (Laboratory Rodent Diet 5001, LabDiet Saint Louis, MO, USA) y agua del bioterio a libre demanda durante el periodo de adaptación a las condiciones del ambiente antes de que se procediera con las intervenciones experimentales en las semanas 7-9 de vida. Los ratones se marcaron individualmente con un marcador de tinta indeleble permitiendo así una mejor identificación para el análisis de resultados. Tras finalizar las intervenciones, la eutanasia de los ratones, se realizó con CO₂. Dicho protocolo (protocolo No. 231) fue aprobado por UPEAL BIOTERIO DCBS.CICUAL.006.22 (con fecha vigente del 30 de Junio del 2022 al 30 de Junio del 2027).

4.2 DSS

Se utilizó DSS from Leuconostoc mesenteroides de la marca Sigma, Darmstadt, Germany; Se pesaron 15 g del polisacárido y se disolvieron con 60 mL de agua esterilizada en autoclave (AESA modelo 250, CDMX, México). Una vez que el DSS estaba diluido se filtró dos veces con un filtro de membrana (0.45µm, CAT N° HVLP02500 MILIPORE, Cork, Ireland). Luego de obtener 50 mL de producto, estos se aforaron a 300 mL de agua estéril para obtener la concentración al 5% p/v. Por otra parte, se tomaron 100 mL de la solución al 5% y se aforaron con 100 mL con agua estéril para obtener 200 mL de solución de DSS al 2.5%. De la solución al 5 y al 2.5%, se tomaron 100 mL y se envasaron en bebederos estériles para ratones. Todo lo anterior se realizó en condiciones de esterilidad la campana de flujo laminar (Cat. N° VT-3000-ECO)



4.3 Modelo experimental

Los ratones se dividieron en 3 grupos con 4 ratones cada uno. Al grupo control se le proporcionó agua estéril, al grupo 2 se le proporcionó DSS al 2.5% p/v y al grupo 3 DSS al 5% p/v. El tratamiento se inició el día martes de la séptima semana de vida y se terminó el día lunes de la semana 8 de vida y posteriormente fueron sacrificados el día jueves de la misma semana.

En la intervención experimental se evaluó el consumo de alimento, peso corporal, consistencia de las heces y la presencia de sangre en las mismas. Estos parámetros fueron monitoreados diariamente, durante 8 días continuos. El manejo de los ratones se realizó a la misma hora, para atenuar la influencia del ciclo circadiano sobre fluctuaciones de la ACTH.

A. Evaluación del consumo de alimento

Para este parámetro, el primer día (día 1) se les proporcionaron 200g \pm 0.5 de alimento por grupo. Posteriormente el alimento se pesó diariamente y se sacó la diferencia para obtener el consumo diario y se construyó una tabla para capturar los datos obtenidos.

B. Evaluación del peso corporal

Para este parámetro, el día 1 se comenzó a tomar el peso corporal de los ratones individuales con ayuda de una balanza digital (modelo YS202, Ohaus), y se continuó diariamente durante todo el periodo del proceso de experimentación. Se anotaron los datos en una tabla.

C. Evaluación de la consistencia de las heces

Primeramente, se inició colocando a los ratones de manera individual dentro de una caja previamente marcada con 12 divisiones, la cual permitió monitorear las heces de cada uno de los ratones. También se tomó el tiempo de entrada y salida. Una vez que todos los ratones habían defecado, se regresaron a sus cajas y después se prosiguió con el análisis de sus heces con ayuda de una espátula para percibir su consistencia. Las heces fueron evaluadas bajo los parámetros que muestra la Tabla 3: 0 puntos si las heces tenían una consistencia firme, húmeda y mantenía su forma habitual, 2 puntos si se observaba semisuelta, más húmeda de lo habitual y

con una forma amorfa y finalmente 4 puntos a las heces que se observaran completamente sueltas, con un exceso de humedad y sin forma alguna.

Tabla 3. Aspectos evaluados para la consistencia de las heces.

Puntaje	Consistencia	Aspecto	Forma
0	Firme	Normal	Normal
2	Semisuelta	Húmedo	Amorfa
4	Suelta	Muy Húmedo	Amorfa

D. Evaluación de la presencia de sangre en heces

Para la evaluación del sangrado en heces, una vez que se tenían las heces de los ratones individuales, con ayuda de una espátula se maceraron las heces para observar internamente si había presencia de sangre. La asignación del puntaje se basó en los siguientes 2 rubros: 0 puntos si las heces presentaban un color característico al habitual, sin ningún sangrado tanto externo como interno y 4 puntos si se observaba sangre en las heces a simple vista o internamente.

E. Evaluación del índice de actividad de la enfermedad (DAI)

Para evaluar el DAI, se reunieron todos los datos obtenidos de los parámetros anteriores y se les asignó una puntuación de acuerdo con la Tabla 4, la cual permitió calcular a partir de la fórmula 1 el promedio diario el DAI.

Las puntuaciones se anotaron diariamente, en tablas previamente preparadas para cada grupo y ratón.

Tabla 4. Puntaje DAI

Puntaje	Pérdida de peso	Consistencia de las heces	Sangrado en heces
0	Ninguna	Normal	Normal
1	1-5%	---	---
2	5-10%	Heces sueltas	---
3	10-20%	---	---
4	>20%	Diarrea	Sangrado macroscópico

Tabla Recuperada de da Silva et al. (2016). DAI; Índice de la enfermedad

Fórmula 1. Cálculo para obtener el índice de la actividad de la enfermedad (DAI) promedio

$$DAI = \frac{[\text{índice de peso}(\%) + \text{caracterización de las heces} + \text{hematoquecia}]}{3}$$

F. Análisis estadístico

La comparación de los datos de los tres grupos independientes se analizó con un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, las diferencias fueron valoradas significativas a valor de $p < 0.05$.

5. Metas alcanzadas

Los objetivos generales y específicos planteados se lograron, sin embargo, no se logró estandarizar la dosis de DSS para inducir CU.

6. Resultados y conclusiones

6.1. Modelo experimental

A. Evaluación del consumo de alimento

El consumo de alimento, aunque no se encuentra dentro de los parámetros para obtener el DAI; también fue evaluado, para llevar un control sobre los ratones y analizar si presentaba algún efecto de la CU que pudiera alterar el consumo entre los grupos. En la **Figura 2**, se representa el consumo de alimento para los ratones tratados con agua estéril (G1), 2.5% p/v (G2) y 5% p/v (G3) de DSS. Este parámetro fue evaluado por grupos.

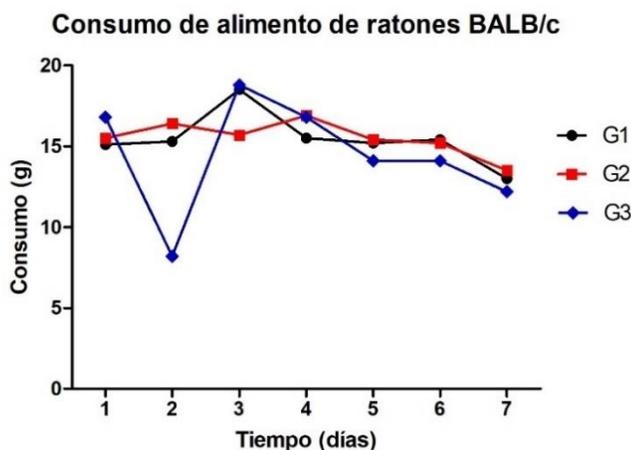


Figura 2. Consumo de alimento en gramos (eje Y) en ratones BALB/c. Grupo tratado con agua estéril G1, grupo tratado con dextrano al 2.5% G2 y grupo tratado con dextrano al 5% G3 durante 8 días.

Una vez obtenidos los resultados, se observó que no presentaron diferencias significativas entre el consumo diario de cada grupo.

B. Evaluación de peso corporal

El peso corporal se incluyó como uno de los tres parámetros para la evaluación del DAI, como se explicó en material y métodos. El peso corporal se evaluó en los tres grupos tratados con agua estéril y DSS al 2.5 y 5% p/v durante 8 días continuos (**Tabla 5**),

Tabla 5. Control del peso corporal (g) de los ratones BALB/c por 8 días

Peso corporal (g)								
Grupo	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
1 R1	18.5	17.7	18.2	18.1	17.7	18	17.8	17.9
1 R2	18.3	18.3	18.7	18.9	18.5	18.4	18.5	18.4
1 R3	17.5	17.2	17.5	17.7	17.2	17.5	17.4	17.2
1 R4	16.5	16.7	16.7	17.1	17	17.1	17.1	17.2
2 R1	16.7	17.2	17.4	17.5	17.5	17.7	17.1	17.3
2 R2	18.5	18.9	18.9	18.7	18.6	18.9	18.5	18.3
2 R3	16.5	17.5	17.3	17.3	17.2	17	17.5	16.9
2 R4	19	19.4	19.2	19.4	19.4	19.8	19.8	19.6
3 R1	15.8	16.4	14	15.9	16.4	16.5	16.2	16
3 R2	17.7	18.2	15.7	18.1	18.4	18.6	19	18.7
3 R3	17.2	17.1	15.0	17.0	17.2	17.3	17.5	17.2
3 R4	18.0	18.6	16.9	18.4	18.1	18.3	18.4	18.4

Con los datos obtenidos de la Tabla 5 se realizó una representación de los promedios en la **Figura 3** que se presenta a continuación.

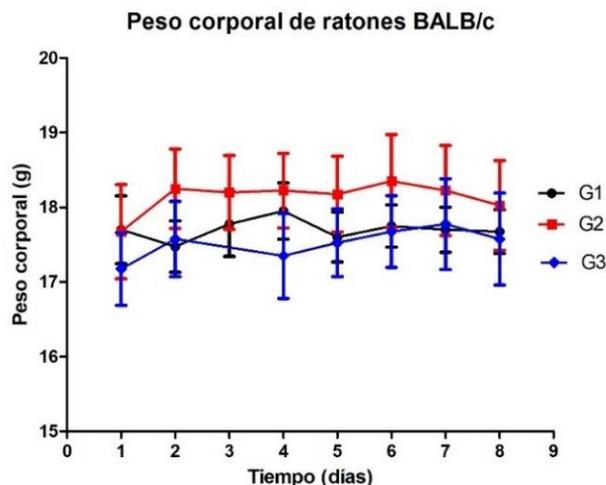


Figura 3. Promedio del peso corporal en gramos (eje Y) en ratones BALB/c. Grupo tratado con agua estéril G1, grupo tratado con dextrano al 2.5% G2 y grupo tratado con dextrano al 5% G3, durante 8 días continuos.

Como se puede observar, los resultados no mostraron una pérdida de peso constante durante los ocho días, puesto que los ratones estaban en constante pérdida e incremento de peso, manteniéndose así sobre un rango similar al del inicio.

C. Evaluación de la consistencia de heces

La consistencia de las heces fue el segundo parámetro para evaluar el DAI de acuerdo a lo explicado en material y métodos.

A continuación, se presenta en la **Tabla 6**, los puntajes de cada ratón tratados agua estéril y DSS al 2.5 y 5% p/v.

Tabla 6. Evaluación individual de la consistencia de heces en ratones BALB/c de acuerdo con el puntaje DAI. Normal (0 puntos), semisuelta (2 puntos) y diarrea (4 puntos).

Consistencia de heces (Normal, semisuelta, diarrea)								
Grupo	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
1 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R4	0	0	0	0	0	0	0	0

Como se puede observar, en todos los puntajes obtenidos, las heces siempre se mantuvieron en su consistencia habitual, no obstante, cabe recalcar que a partir del cuarto día se observó que al grupo 2 y 3 les tomaba más tiempo defecar en comparación con el grupo 1, además de presentar un poco más de humedad en sus heces. Sin embargo, a pesar de haber presentado estos cambios, ninguno de los grupos cumplía con los requisitos para asignarles un puntaje diferente al planteado.

D. Evaluación de la presencia de sangre en las heces

La presencia de sangre en las heces fue el tercer parámetro para evaluar el DAI. En la **Tabla 7** se muestran los puntajes que fueron obtenidos de acuerdo al sangrado en heces para los tres grupos tratados con agua estéril y DSS al 2.5 y 5% p/v.

Tabla 7. Evaluación individual de sangrado en heces en ratones BALB/c de acuerdo con el puntaje DAI. Normal (0 puntos) o sangrado macroscópico (4 puntos).

Sangrado en heces (Normal, sangre macroscópica)								
Grupo	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
1 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R4	0	0	0	0	0	0	0	0

Como se puede observar, no se presentaron cambios en ningún día; las heces de todos los ratones se mantuvieron en su coloración normal de forma externa e interna.

E. Evaluación del índice de actividad de la enfermedad (DAI)

Una vez obtenidos los puntajes de los tres parámetros establecidos anteriormente, se obtuvo el DAI para los tres grupos de ratones (**Tabla 8.**)

Tabla 8. DAI obtenido de los ratones BALB/c, durante 8 días de tratamiento con DSS.

DAI OBTENIDO DE RATONES BALB/c								
Grupo	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
1 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
1 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
2 R4	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R1	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R2	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R3	0	0	0	0	0	0	0	0
3 R4	0	0	0	0	0	0	0	0

Los datos sugieren que no se reprodujo la enfermedad en las condiciones de nuestro estudio en los tres grupos de ratones al administrar diferentes porcentajes de DSS.

Conclusiones

El estudio realizado con las condiciones experimentales implementadas en este protocolo no logró reproducir el modelo de colitis a ninguna dosis reportada en la literatura.

7. Recomendaciones

Para futuros ensayos experimentales se recomienda probar con diferentes dosis y tiempos de administración de dextran sulfato de sodio, esto con el fin de implementar la CU de manera más eficiente.

8. Bibliografía

- Chassaing, B., Aitken, J. D., Malleshappa, M., & Vijay-Kumar, M. (2014). Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Current Protocols in Immunology, Suppl.104*, 1–14. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1525s104>
- Gao, X., Li, J., Pang, X., Cong, K., Jiang, C., Han, B., & Gao, J. (2022). *Animal Models and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. 2022*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2022/5927384>
- González, I. (2018). Evaluación Histológica En Pacientes Con Colitis Ulcerosa En Remisión Endoscópica. *Universidad Autónoma de Madrid, 1*, 85. https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/686223/gonzalez_partida_irene.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Goyal, N., Rana, A., Ahlawat, A., Bijjem, K. R. V., & Kumar, P. (2014). Animal models of inflammatory bowel disease: A review. *Inflammopharmacology, 22*(4), 219–233. <https://doi.org/10.1007/s10787-014-0207-y>
- Kotze, P., Steinwurz, F., Francisconi, Carlos Zaltman, C., Pinheiro, M., Sales, L., & Ponce de Leon, D. (2020). *Review of the epidemiology and burden of ulcerative colitis in Latin America. 13*, 1–14. <https://doi.org/10.1177/1756284820931739>
- Laroui, H., Ingersoll, S. A., Liu, H. C., Baker, M. T., Ayyadurai, S., Charania, M. A., Laroui, F., Yan, Y., Sitaraman, S. V., & Merlin, D. (2012). Dextran sodium sulfate (dss) induces colitis in mice by forming nano-lipocomplexes with medium-chain-length fatty acids in the colon. *PLoS ONE, 7*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032084>
- Liu, X., & Wang, J. M. (2011). Iridoid glycosides fraction of folium syringae leaves modulates NF-κB signal pathway and intestinal epithelial cells apoptosis in experimental colitis. *plos one, 6*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024740>
- Loftus, E. V., & Sandborn, W. J. (2002). Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America, 31*(1), 1–20. [https://doi.org/10.1016/S0889-8553\(01\)00002-4](https://doi.org/10.1016/S0889-8553(01)00002-4)
- Low, D., Nguyen, D. D., & Mizoguchi, E. (2013). Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Design, Development and Therapy, 7*, 1341–1356. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S40107>
- Sonnenberg, E., & Siegmund, B. (2016). Ulcerative Colitis. *Digestion, 94*(4), 181–185. <https://doi.org/10.1159/000452621>
- Tran, C. D., Katsikeros, R., & Abimosleh, S. M. (2012). Current and Novel Treatments for Ulcerative Colitis. In (Ed.), *Ulcerative Colitis from Genetics to Complications*. Intechopen. <https://doi.org/10.5772/25592>
- Yamamoto-Furusho, J. K. (2009). Clinical epidemiology of ulcerative colitis in Mexico: A single hospital-based study in a 20-year period (1987-2006). *Journal of Clinical Gastroenterology, 43*(3), 221–224. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31817a76b4>
- Yamamoto-Furusho, J. K., Sarmiento-Aguilar, A., Toledo-Mauriño, J. J., Bozada-Gutiérrez, K. E., Bosques-Padilla, F. J., Martínez-Vázquez, M. A., Marroquín-Jiménez, V., García-Figueroa, R., Jaramillo-Buendía, C., Miranda-Cordero, R. M., Valenzuela-Pérez, J. A., Cortes-Aguilar, Y., Jacobo-Karam, J. S., & Bermudez-Villegas, E. F. (2019). Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Mexico from a nationwide cohort study in a period of 15 years (2000-2017). *Medicine, 98*(27), e16291. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016291>



Maria Elisa Drago S.

Dra. Maria Elisa Drago Serrano
Asesor interno a cargo
No. Económico: 17243



Dra. Fabiola Guzmán Mejía
Asesor externo a cargo
Posdoctorante ID: 900050